Aus der I. Inneren Abteilung des
Städtischen Krankenhauses Neukölln
Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Holldack

COLCHICINWIRKUNG AUF DIE PROLIFERATIONSKINETIK DER ERYTHROPOESE, MEGALOPOESE UND GRANULOPOESE IN VITRO

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Peter Königs
aus Düsseldorf

1969

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Neukölln
Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Klaus H o l l d a c k

COLCHICINWIRKUNG AUF DIE PROLIFERATIONSKINETIK DER ERYTHROPOESE, MEGALOPOESE UND GRANULOPOESE IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität

vorgelegt von
Hans-Peter Königs
aus Düsseldorf

Dekan: Professor Dr. med. Hans Heinz N a u m a n n

Referent: Priv. Doz. Dr. med. Irene B o l l

Korreferent: Professor Dr. med.Dr.sc.h.c.Dr.med.vet.h.c.Dr.med.h.c
Hans Freiherr v. K r e ß

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 23.4.69

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

I N H A L T

	Seite
F R A G E S T E L L U N G	3
M E T H O D I K	5
E R G E B N I S S E U N D D E R E N B E S P R E C H U N G	9
1. DIE WIRKUNG DER VERSCHIEDENEN COLCHICIN-KONZENTRATIONEN	10
2. DIE MITOSEHEMMUNG DURCH COLCHICIN IM VERLAUF DER EINZELNEN KULTUREN	12
3. DIE REIFUNG DER ZELLEN IM VERLAUF DER KULTUR	14
Z U S A M M E N F A S S U N G	23
L I T E R A T U R	24

F R A G E S T E L L U N G

Colchicin, das Alkaloid der Herbstzeitlosen, ist schon seit langem als Zellgift bekannt. Seine Wirkung erstreckt sich auf tierische wie pflanzliche Zellen. Dem Typ nach gehört es zu den sogenannten Kern- oder Mitosegiften, die den normalen Ablauf des Mitosegeschehens in der frühen Metaphase blockieren. Colchicin verhindert die Ausbildung der Spindel und damit die Entwicklung der Mitose bis zum Monaster bzw. zur Äquatorialplatte in der späten Metaphase.

Wichtig für die experimentelle Hämatologie wurde Colchicin durch die Versuche von ASTALDI[1], der die mitosehemmende Wirkung, die sich fast ausschließlich auf die Erythropoese beschränkt, in seinem "Stathmokinetischen Test" zur Untersuchung der Mitosehäufigkeit von Knochenmarkkulturen benutzte. Sonst ist wegen der relativ kurzen Dauer der Mitosen die Anzahl der Mitosephasen im fixierten Präparat so gering, daß man erst bei der mikroskopischen Betrachtung einiger tausend Zellen einen genauen Überblick über die Mitosehäufigkeit gewinnt. Durch den Kunstgriff der Mitosehemmung im "Stathmokinetischen Test" werden die Mitosen in der Kultur angereichert, weil sie viel länger dauern.

Um auf diese Weise tatsächlich die Gesamtzahl der Mitosen auszählen zu können, müssen u.a. folgende Voraussetzungen erfüllt sein: A l l e Mitosen müssen gehemmt werden und während der Beobachtungszeit erhalten bleiben, dürfen also nicht zugrunde gehen oder eine andere Entwicklung nehmen. Außerdem darf die Teilungsfähigkeit und -bereitschaft des Gewebes durch Colchicin nicht beeinflußt werden. Ein unter diesen Voraussetzungen gezählter, mit zunehmender Zeit immer höher ansteigender Mitoseindex unter Colchicin - MI_c, Statmokinetischer Index nach ASTALDI - wäre ein Maß für die Mitosehäufigkeit während der Beobachtungszeit.

Es zeigte sich aber, daß der Colchicin-Mitoseindex nicht mit zunehmender Zeit immer weiter ansteigt, sondern nach einer gewissen Zeit konstant bleibt. Dies spricht gegen die unbe-

grenzte Dauer der colchicingehemmten Mitose und wurde durch Lebendbeobachtungen von postmitotischen Zerfallzuständen solcher Mitosen gesichert (BOLL).

Der Colchicin-Mitoseindex ist demnach bestimmt durch das Produkt von Mitosehäufigkeit (m) und Mitosedauer (t_{mc}):

$$MI_c = m \times t_{mc}$$

Die Mitosehäufigkeit ist meßbar als Zunahme der Mitosen pro Zeiteinheit innerhalb des Zeitintervalles der Dauer der Colchicin-Mitose, die mit ca 12 Stunden angegeben wird.

Die Herstellung solcher Mitoseindexverlaufskurven von hinreichender Genauigkeit zur exakten Bestimmung obiger Größen ist an häufige Auszählung der Kulturen in kurzen Intervallen gebunden. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Ergebnisse sind allerdings im biologischen Material nicht genau genug, um bei der Berechnung anderer abgeleiteter Größen, wie Dauer der normalen Mitose, Generationszeit, Interkinesezeit u.a. zu exakten Ergebnissen zu führen.

Abgesehen von diesen Schwächen des stathmokinetischen Tests als quantitative Methode ist der qualitative Effekt der Mitosehemmung durch Colchicin unbestritten, beim menschlichen Knochenmark jedoch meist auf die rote Reihe beschränkt.

In der vorliegenden Untersuchung wurde diese Mitosehemmung durch Colchicin als Methode benutzt zur Untersuchung der - an der Mitosehäufigkeit ablesbaren - Teilungsaktivität von Knochenmarkkulturen bei verschiedenen Blutkrankheiten und zur Klärung der Zusammenhänge zwischen Teilung und Reifung im hämopoetischen System:
Bei der Züchtung von Knochenmarkkulturen gesunder Menschen in geeigneten Nährmedien kann man bei Beobachtung über einen oder mehrere Tage eine "Reifung" der Kultur feststellen, d.h. eine durch die Entwicklung der Zellen von Ausgangsformen über Zwischenstufen zu den im Blut benötigten funktionstüchtigen Endstufen bedingte Zunahme der reiferen und Abnahme der unreiferen

Elemente. Dieser Vorgang ist bei verschiedenen Blutkrankheiten gestört.

Unter Colchicin findet man die oben beschriebene Blockierung der Mitosen und die daraus resultierende Hemmung der Zellteilung. Wirkt sich dieser einschneidende Vorgang auch auf die Reifung der Zellen aus? In diesem Sinne stellt sich die vorliegende Arbeit die Frage nach dem Einfluß von Colchicin auf die R e i f u n g in Abhängigkeit von seiner Wirkung auf die T e i l u n g bei verschiedenen Krankheiten des hämopoetischen Systems.

M E T H O D I K

Die K n o c h e n m a r k k u l t u r e n werden nach der CARRELschen Deckglasmethode mit den hängenden Coagulumtröpfchen, modifiziert nach BOLL[3] S. 40 gezüchtet. Dabei besteht das zur Coagulation gebrachte Medium aus

40% Nativ-Plasma des betreffenden Patienten
10% Corhormon[R] der Fa. Chemiewerke Homburg
50% Hanks Lösung

Vom gemischten Medium werden große, flach ausgezogene Tropfen auf Objektträger gesetzt, die innerhalb weniger Minuten gerinnen. Dann werden mit Starmessern die Knochenmarkbröckel , die nach der Punktion in Heparinlösung aufbewahrt werden, auf das Coagulum gesetzt, mit einem winzigen Serumtröpfchen bedeckt, über dem Ganzen ein Hohlschliffobjektträger mit Vaseline befestigt und nun die fertige Kultur umgedreht. Die Deckglasränder werden mit auf der Flamme in einem Tiegelchen flüssig gemachtem Hartparaffin luftdicht verschlossen. Die Kulturen werden im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Zur gewünschten Zeit können von diesen Zellkulturen in der bei Sternalpunktaten üblichen Weise Ausstriche angefertigt werden, die nach Lufttrocknung nach PAPPENHEIM gefärbt und mit dem Mikroskop (Ölimmersion) betrachtet werden.

Neben diesen Kontrollkulturen werden Kulturen desselben Knochenmarks unter sonst gleichen Bedingungen mit Colchicinzusätzen verschiedener Konzentration angesetzt, wobei das Colchicin nur dem Coagulum, nicht dem überstehenden Serum zugesetzt wurde, aber seine Wirkung auf das Knochenmark in der bekannten Weise entfaltete.

Die Colchicin-Konzentrationen betrugen: 0,5 mg%
0,25 mg%
0,1 mg%
0,01 mg%
0,005 mg%
0,001 mg%

Unter dem Mikroskop wurde jedes Präparat mäanderförmig durchstreift und dabei jeweils alle in einem Gesichtsfeld liegenden Zellen gezählt und klassifiziert, insgesamt 1000 Zellen pro Präparat.

Die Klassifizierung erfolgte nach den üblichen morphologischen Kriterien, im einzelnen in Anlehnung an BOLL[3] und ROHR[6] wie folgt:

1. Der M y e l o b l a s t (12-20µm Durchmesser), die jüngste Zelle der weißen Reihe, zeichnet sich besonders durch seine stark zugunsten des Kerns verschobene Kern-Plasma-Relation aus sowie durch Fehlen jeglicher azurophiler Granulation im Cytoplasma. Das Cytoplasma selbst ist basophil, hell und durchsichtig, und umgibt den runden oder leicht ovalen Kern als schmalen Saum. Der Kern hat eine feine, netzartige Struktur und ist ebenfalls sehr hell und durchsichtig. Manchmal sind farblich wenig abgesetzte Nucleolen zu erkennen.
2. Der P r o m y e l o c y t (16-27µm) ist wegen seiner Größe und ausgeprägten azurophilen Granulation eine besonders markante Zelle. Die Größenzunahme liegt vorwiegend beim Cytoplasma, das weniger basophil ist als beim Myeloblasten. Die stark gefärbten dunkelrot-violetten Granula erscheinen unregelmäßig über die ganze Zelle verstreut und beherrschen das Bild. Der Kern ist dichter als beim Myeloblasten. Nucleolen sind kaum noch zu erkennen.

3. Der neutrophile M y e l o c y t (12-18µm) ist wieder erheblich kleiner als der Promyelocyt bei ähnlicher Kern-Plasma-Relation. Seine Granulation ist entsprechend der hier benutzten Einteilung neutrophil, d.h. ohne Azurophilie, das Cytoplasma hell grau-rosa. Der Kern ist noch mehr verdichtet, oval oder nierenförmig. Nucleolen sind bei dieser Färbung nicht mehr zu erkennen.
   Der e o s i n o p h i l e Myelocyt unterscheidet sich vom neutrophilen durch eosinophile, grobe Granula, der b a s o p h i l e Myelocyt durch basophile Granula.
4. Der M e t a m y e l o c y t oder Jugendliche unterscheidet sich vom Myelocyten nur durch seinen stärker gebuchteten Kern, der mitunter noch etwas stärker verdichtet ist.
5. Der s t a b k e r n i g e N e u t r o p h i l e hat einen noch mehr verdichteten, stabförmigen Kern; das Cytoplasma ist wie beim Myelocyten beschaffen. Die Zellgröße ist geringer.
6. Der s e g m e n t k e r n i g e N e u t r o p h i l e (10-15µm) ist gekennzeichnet durch Einschnürungen des Kerns, die als fadenartige Brücken zwischen den Kernteilen imponieren. In der Regel finden sich 2-3 Brücken, d.h. 3-4 Segmente. Die neutrophile Granulation hebt sich kaum vom Cytoplasma ab.
   Beim e o s i n o p h i l e n bzw. b a s o p h i l e n Segmentkernigen finden sich statt der neutrophilen eosinophile bzw. basophile Granula.

Erythropoese:

1. Der P r o e r y t h r o b l a s t (15-22µm), als jüngste Zelle der roten Reihe, hat einen großen runden Kern mit dichtem Chromatinnetz und ist von einem gleichmäßig schmalen stark basophilen Cytoplasmasaum umgeben.
2. Der b a s o p h i l e Erythroblast (8-15µm) ist erheblich kleiner, bei Kern-Plasma-Relation zugunsten des Cytoplasmas verschoben, welches dunkel basophil den we-

niger gleichmäßig strukturierten, grobscholligen Kern, der manchmal Radspeichenstruktur annimmt, umgibt.

3. Der p o l y c h r o m a t i s c h e Erythroblast (8-12 µm) ist durch die beginnende Aufnahme von Hämoglobin ins Cytoplasma gekennzeichnet, so daß dieses eine von blau-grau bis grau-rosa variierende Farbe annimmt.
4. Der o x y p h i l e Erythroblast (7-10 µm) hat die Cytoplasmafarbe des Erythrocyten. Im Kern ist noch eine Struktur zu erkennen.
5. Der r e i f e Erythroblast unterscheidet sich vom vorigen durch seinen pyknotischen Kern, der kurz vor der Ausstoßung steht.

Die Mitosephasen wurden nach BOLL[3] S. 45 ff wie folgt klassifiziert:

1. P r o p h a s e (festes Spirem) zeigt sich im fixierten gefärbten Knochenmarkausstrich durch Auflösung der Kernmembran und des Nucleolus. Die normale Kernstruktur verschwindet, es erscheinen die Chromosomenbälkchen.
2. f r ü h e M e t a p h a s e (lockeres Spirem): Die Chromosomen verteilen sich über die ganze Zelle.
3. s p ä t e M e t a p h a s e (Monaster bzw. Äquatorialplatte): Die Chromosomen sind verdoppelt und als Monaster bzw. Äquatorialplatte angeordnet.
4. A n a p h a s e (Diaster): Die Chromosomen sind zu den Spindelpolen hin auseinandergewichen, es haben sich zwei Äquatorialplatten ausgebildet.
5. T e l o p h a s e (lockeres Dispirem): Beginnende Taillenbildung bis zur völligen Durchschnürung des Cytoplasmas, wobei häufig noch eine feine Cytoplasmabrücke beide nebeneinander liegenden Zellen verbindet.
6. R e k o n s t r u k t i o n s p h a s e (festes Dispirem): Die Kerne sind noch nicht mit den Kernmembranen neu ausgebildet.

Die Zellen mit colchicingehemmten Mitosen zeigen ein charakteristisches, wenn auch vielfältiges Bild: Die einzelnen Chromosomen sind verkürzt und verklumpt, teilweise fragmentiert mit versprengten Bruchstücken; Anzahl und Verteilung sind verändert; häufig finden sich auch Cytoplasmaabschnürungen, die meist keine Chromosomen enthalten und als Versuch des Cytoplasmas gedeutet werden können, die künstlich gehemmte Mitose zu vollenden.
Als colchicingehemmte Mitosen wurden auch die Zellen mit verklumptem Chromosomensatz (sog. Ballmitosen) mitgezählt.

Die Ergebnisse der Differentialzählungen wurden graphisch dargestellt als Prozentverteilung der einzelnen Zelltypen, getrennt für die Erythro- und Granulopoese, u.z. zeitgerecht entsprechend der jeweiligen Kulturdauer (= Reifungskurven).

Die Mitosen wurden auf tausend Teilungsfähige (Proerythroblast bis oxyphiler Erythroblast in der roten, und Myeloblast bis Metamyelocyt in der weißen Reihe) bezogen in ‰ angegeben und als roter bzw. weißer Mitoseindex (rMI, wMI) für die Kontroll- und Colchicinkulturen am Rand der Graphik neben der zugehörigen Differentialzählung vermerkt.

Der $\frac{G}{E}$ Index gab das Verhältnis der gesamten Granulopoese zu gesamten Erythropoese wieder.
Außerdem wurden die Mitoseindices eines jeden Knochenmarkes mit und ohne Colchicin in Abhängigkeit von der Kulturdauer in einer eigenen Graphik dargestellt (s.u.).

E R G E B N I S S E U N D D E R E N B E S P R E C H U N G

Untersucht wurde das Knochenmark von 9 Patienten mit folgenden Krankheiten:

1. Mü. Perniciöse Anämie
2. Ma. Perniciöse Anämie

3. Ba. Perniciöse Anämie
4. Kr. Chron. Myelose
5. Ko. Morbus Hodgkin
6. Le. Hämolytischer Ikterus
7. Mü.K. Eosinophilie
8. Be. Sideroachrestische Anämie
9. Scha. Splenogene Markhemmung

Anzahl und zeitlicher Abstand der von diesen Patienten angefertigten Knochenmark- und Kulturausstriche und die verwendeten Colchicinkonzentrationen sowie die zugehörigen Mitoseindices sind aus den Reifungskurven der 9 Patienten ersichtlich.

Insgesamt wurden 71 Ausstriche untersucht, d.h. 71 00 Zellen klassifiziert.

1. DIE WIRKUNG DER VERSCHIEDENEN COLCHICINKONZENTRATIONEN

In Abb. 1 sind die Mitoseindices der roten Reihe von 5 Patienten in Abhängigkeit von der Kulturdauer dargestellt, bei denen den Knochenmarkkulturen jeweils verschiedene Colchicinkonzentrationen zugesetzt wurden.

Es lassen sich 3 verschiedene Gruppen unterscheiden:

a) Bei Be. und Mü. zeigen die beiden verwendeten Konzentrationen (0,1 mg%, 0,01 mg%) keine großen Unterschiede, während sich das Knochenmark beider Patienten in seiner Teilungsaktivität deutlich unterscheidet.
b) Bei Ko. (0,01 mg%, 0,001 mg%) und Kr. (0,1 mg%, 0,01 mg%) ergeben die verschiedenen Konzentrationen große Unterschiede, wobei das völlige Versagen der 0,1 mg% Konzentration bei Kr. auf einen experimentellen Fehler zurückzuführen sein dürfte (schlecht wachsende Kultur).
c) Bei Scha. zeigt sich bei keiner Konzentration (0,5, 0,1, 0,01 mg%) eine Wirkung.

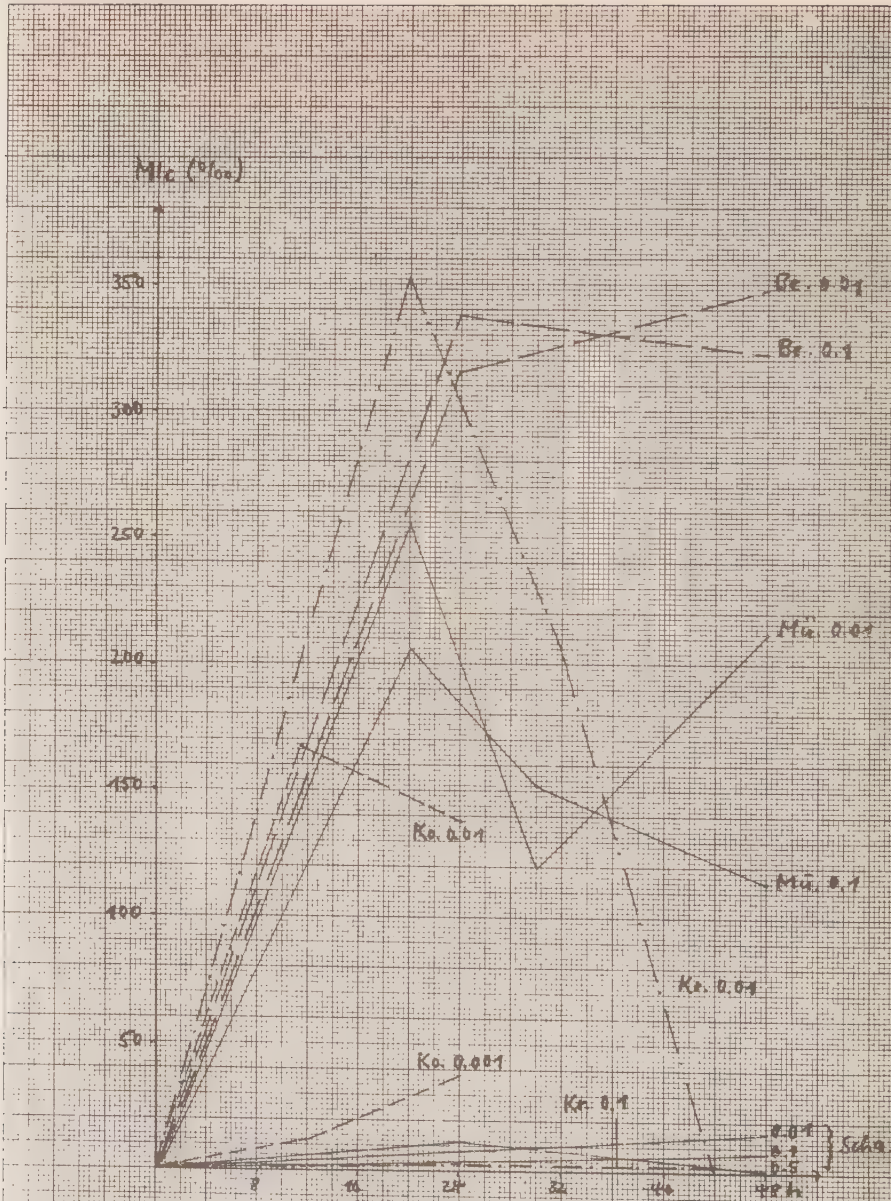


ABB. 1: COLCHICIN-MITOSEINDICES DER ERYTHROPOESE ZU VERSCHIEDENEN KULTURZEITEN VON Be. ——— Mü. ——— Ko. — — — Kr. — · — · Scha. ——— BEI VERSCHIEDENEN KONZENTRATIONEN IN mg%

Beurteilung der einzelnen Konzentrationen:

0,5 mg%: Diese Konzentration (bei Scha.) kann schlecht beurteilt werden, da alle Kulturen dieses Knochenmarks, auch bei den anderen Colchicinkonzentrationen, extrem niedrige Colchicin-Mitoseindices zeigen, die z.T. noch unter denen der Kontrollkulturen liegen und auf einen Fehler im Experiment oder eine Besonderheit dieses Knochenmarks, evtl. mangelnde Haltbarkeit und schlechtes Wachstum in Kultur, zurückzuführen sind.

0,1 mg%
0,01 mg%: Diese Konzentrationen zeigen eine gute Hemmung, entsprechend den Ergebnissen anderer Untersucher, mit geringen Unterschieden zwischen beiden Konzentrationen, die je nach Kulturdauer unregelmäßig zugunsten der höheren oder niedrigeren ausfallen. Über die mangelnde Wirkung von 0,1 bei Kr. s.o. unter b).

0,001 mg%: Diese niedrige Konzentration zeigt bei Ko. eine deutlich geringere Hemmwirkung als 0,01 mg%, scheint also an der unteren Grenze zu liegen.

ASTALDI[2] untersuchte Konzentrationen von 0,002 - 0,08 mg% an Knochenmarkzellen und fand das Maximum der Wirkung bei 0,025 mg% (Colch.MI von 359 ‰) und eine kontinuierliche Abnahme der Wirkung nach oben und unten. Die hier verwendeten Konzentrationen mit optimaler Wirkung (0,01, 0,1) liegen in derselben Größenordnung, die maximalen Mitoseindices entsprechen sich (359 ‰ bei A., 352 ‰ hier, Abb. 5). Die für jedes Knochenmark wirklich optimale Konzentration scheint im Bereich der hier verwendeten Größenordnung zu variieren und müßte experimentell festgestellt werden.

2. DIE MITOSEHEMMUNG DURCH COLCHICIN IM VERLAUF DER EINZELNEN KULTUREN

In Abb. 2 - 7 sind, wie oben beschrieben, die Mitoseindices während des Kulturverlaufes für sechs Patienten aufgezeichnet. Die Verläufe seien im folgenden kurz charakterisiert:

Mü. (Megaloblastenmark):

r.R. (rote Reihe): Steiler Anstieg zum Maximum bei 20h. Dann bei 0,1 mg% ziemlich steiler Abfall bis 48h, bei 0,01 nach steilem Abfall bei 30h erneuter steiler Anstieg bei 48h.

w.R. (weiße Reihe): Keine nennenswerte Mitoseanreicherung.

Ma. (Megaloblastenmark):

r.R.: Steiler Anstieg zum Maximum bei 26h.

w.R.: Steiler Anstieg zum Maximum bei 26h.

Ba. (Megaloblastenmark):

r.R.: Frühzeitiger sehr starker Anstieg bereits bei 7h, weiterer steiler Anstieg bis zum Maximum bei 24h, steiler Abfall bei 40h.

w.R.: Mäßiger Anstieg, später als in der roten Reihe, bis zum Maximum bei 16h, langsamer Abfall bis 40h.

Kr. (Chron.Myelose):

r.R.: Bei 0,01 mg% steiler Anstieg bis zum Maximum bei 20h, steiler Abfall bis 0 bei 44h.

w.R.: Langsamer Anstieg bis zum für die weiße Reihe hohen Maximum, das erst bei 32h erreicht wird, dann langsamer Abfall.

Ko. (M.Hodgkin):

r.R.: Bei 0,01 mg% steiler Anstieg bis zum Maximum bereits bei 12h, bei 23h geringer Abfall. Bei 0,001 mg% geringe Mitosehäufigkeit.

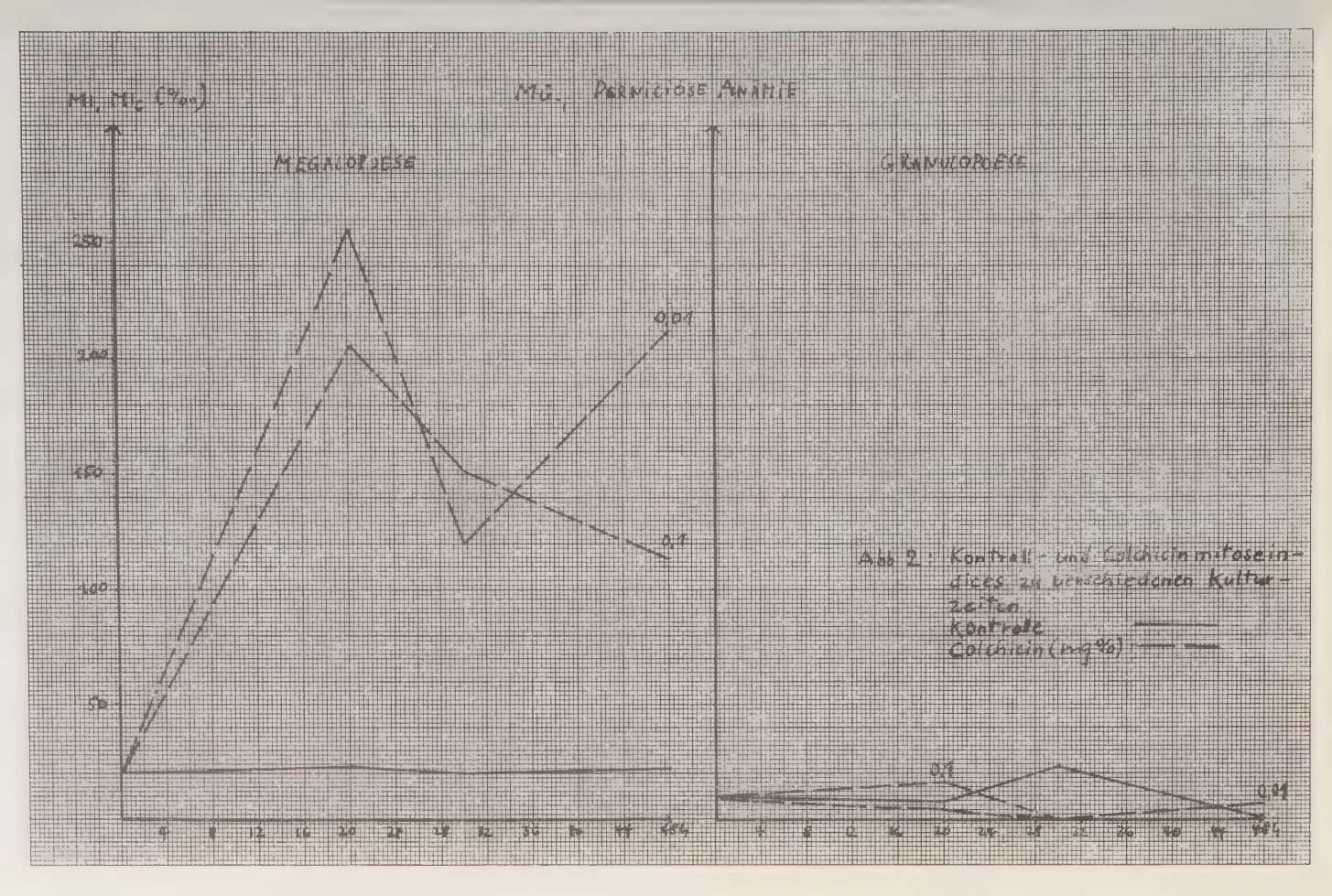
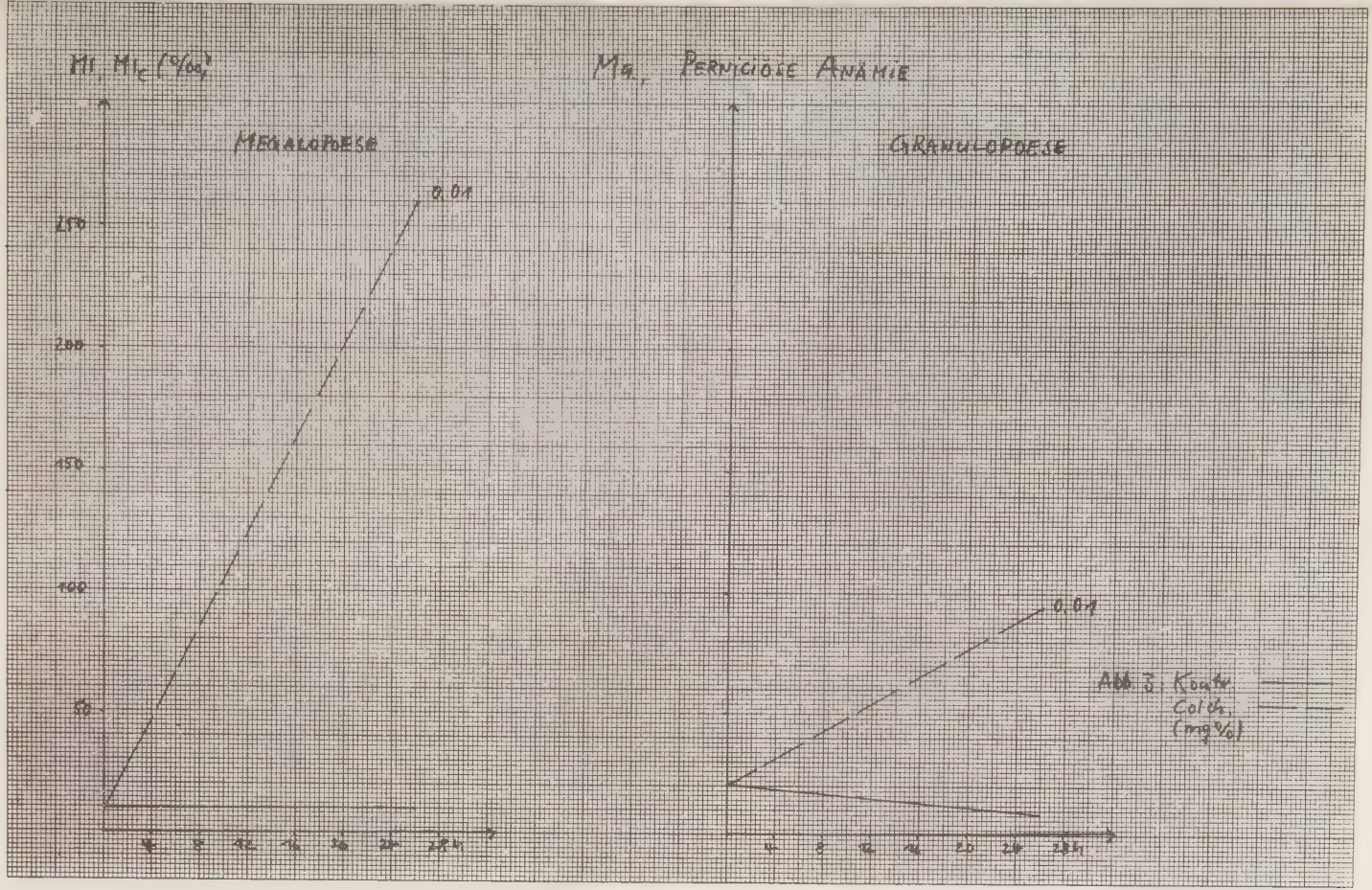
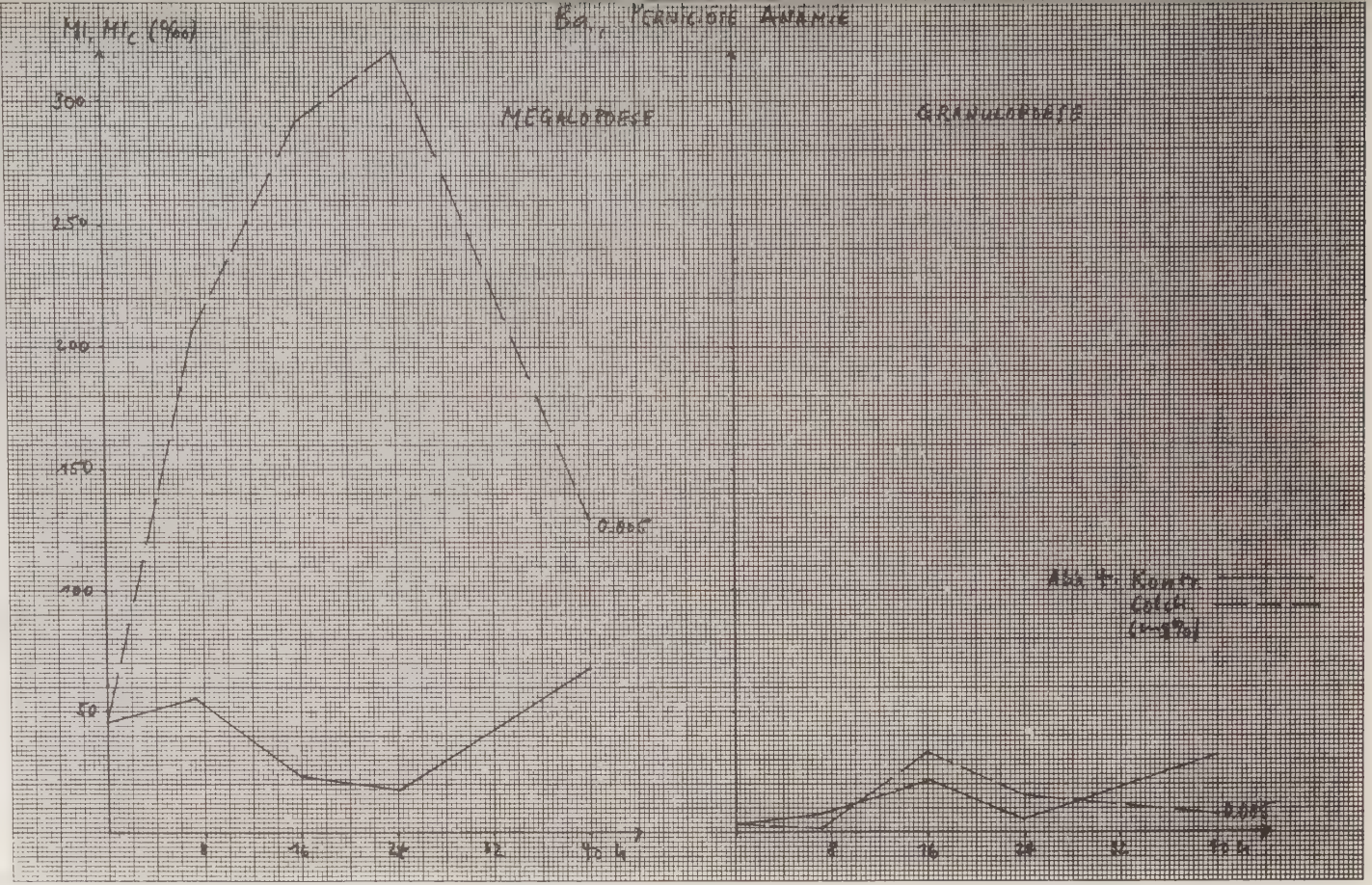
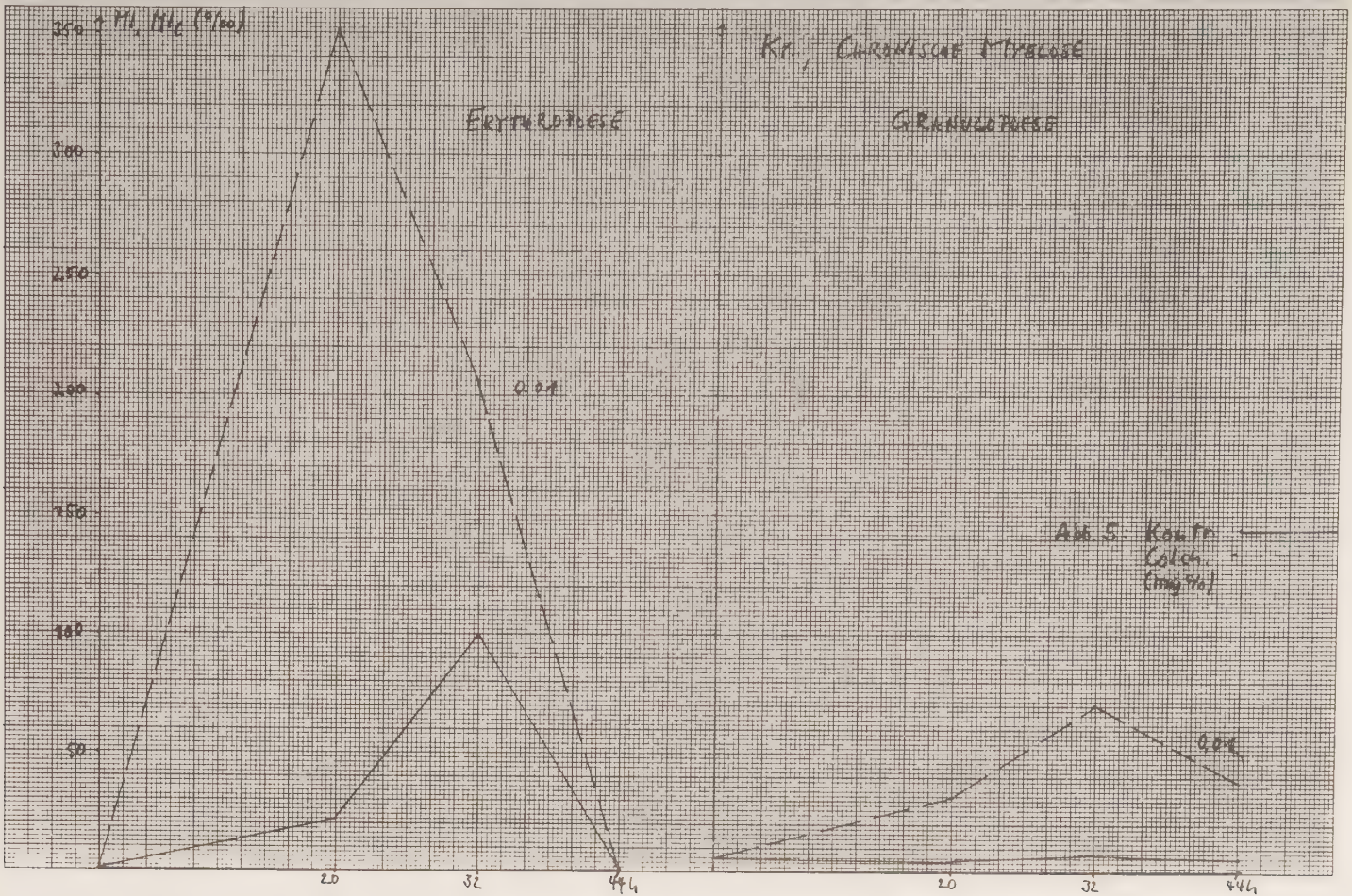


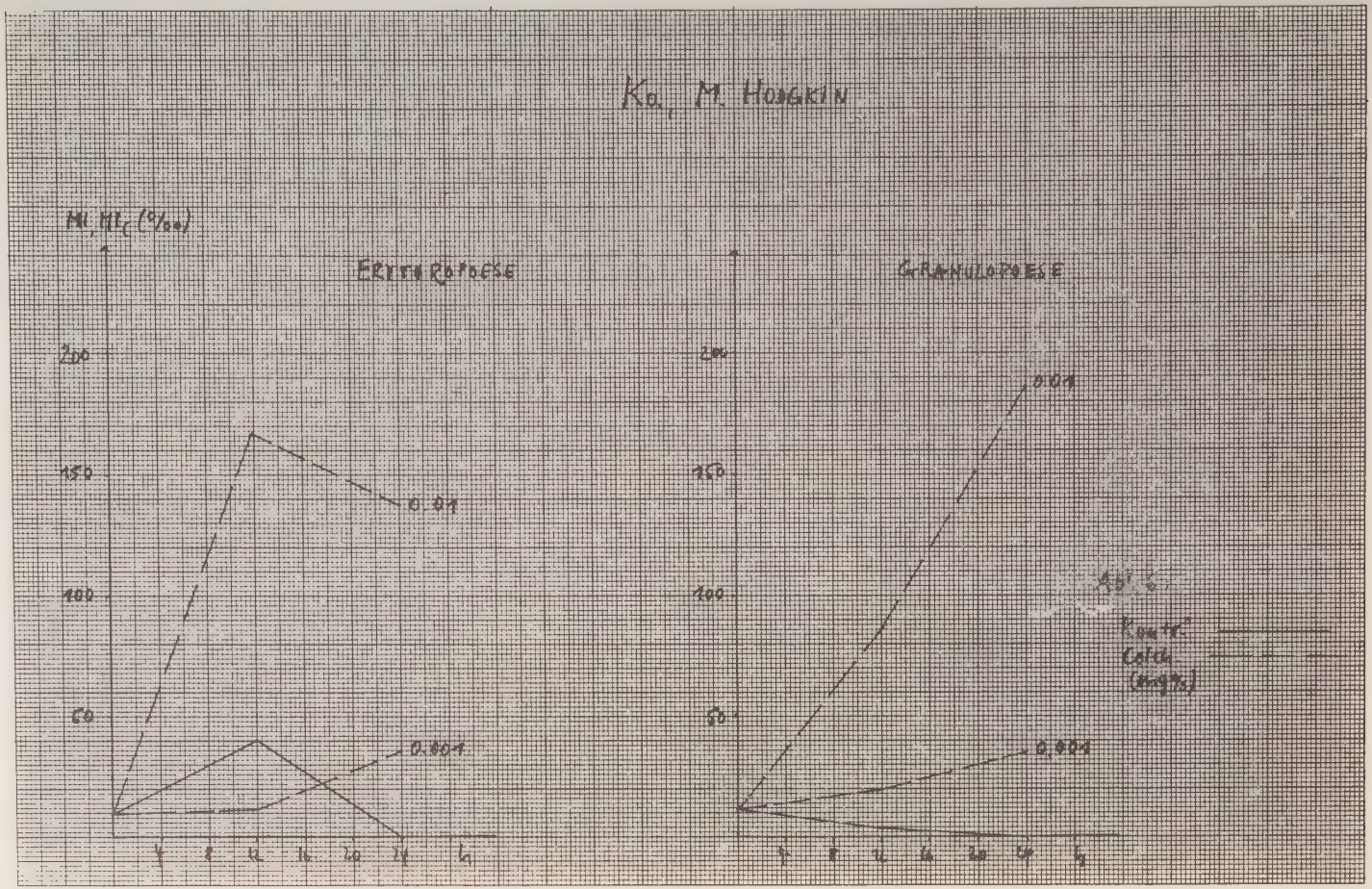
Abb 2: Kontroll- und Colchicinmitoseindices zu verschiedenen Kulturzeiten.
Kontrolle
Colchicin (mg%)

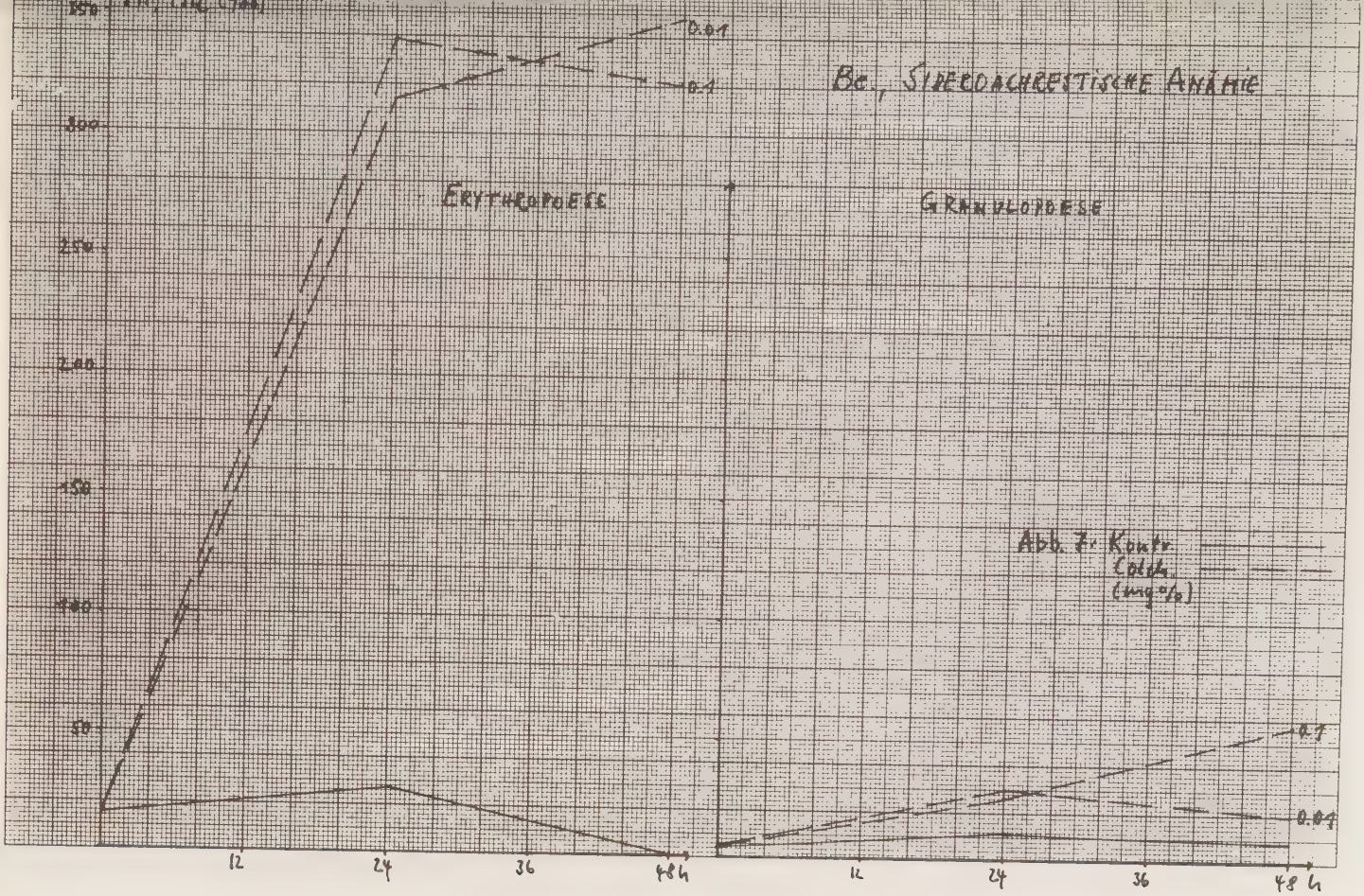

MI, MIc (‰)
MEGALOPOESE
250
200
150
100
50
0.01
4
8
12
16
20
24
28h
Mg, PERNICIÖSE ANÄMIE
GRANULOPOESE
0.01
4
8
12
16
20
24
28h
Abb. 3: Kontr.
Colch.
(mg%)


Ba., PERNICIOSE ANÄMIE
Mi, Mic (‰)
300
250
200
150
100
50
MEGALOPOESE
GRANULOPOESE
0.005
Abb. 4. Kontr.
Colch.
(1-2%)
8
16
24
32
40 h



Kr., Chronische Myelose
Erythropoese
Granulopoese
Ml, Mlc (‰)
350
300
250
200
150
100
50
0.01
20
32
44h
Abb. 5: Kontr.
Colch.
(mg %)


Ko, M. Hodgkin
MI, MIc (‰)
ERYTHROPOESE
GRANULOPOESE
200
150
100
50
0.01
0.001
Kontr.
Colch.
(mg%)


Be., SIDEROACHRESTISCHE ANÄMIE
ERYTHROPOESE
GRANULOPOESE
0.01
0.1
0.1
0.01
350
300
250
200
150
100
50
12
24
36
48 h
12
24
36
48 h
Abb. 7: Kontr.
Colch.
(mg %)

w.R.: Bei 0,01 mg% weniger steiler Anstieg bis zum sehr hohen Maximum erst bei 24h, bei 0,001 mg% geringe Mitosehäufigkeit.

Be. (Sideroachrestische Anämie):

r.R.: Sehr steiler Anstieg zum hohen Maximum bei 24h in beiden Konzentrationen, weiterer Anstieg bis 48h! bei 0,01 mg%, leichter Abfall bei 0,1 mg%.

w.R.: Langsamer Anstieg bis zum Maximum bei 48h bei 0,1 mg%, bei 0,01 mg% leichter Abfall nach 24h.

Bei Mü.K,Le. und Scha. findet sich nur eine geringe Colchicinwirkung. Die Mitoseindices liegen nur gering über, manchmal auch unter den Kontrollindices.

Im Gegensatz zur üblichen Vorstellung, daß colchicingehemmte Knochenmarkkulturen nach einer Latenz von 4 - 6 Stunden nach 16 - 20 Stunden den maximalen Colchicin-Mitoseindex, d.h. die größte Regenerationsintensität erreichen, zeigen unsere Kurven ein von Fall zu Fall recht wechselndes Bild:
Die Maxima finden sich einerseits bei der Erythropoese bereits nach 12h (Ko., M.Hodgkin), andererseits bei der Granulopoese erst nach 32h (Kr., Chron.Myelose) und 48h (Be., Sideroachr.Anämie). Während einige Kurven hohe Gipfel mit steilem Anstieg und Abfall haben (Ba., Mü., Kr.), sind andere plateauförmig (Ko., Be.).

Bei Ba. fällt der äußerst früh einsetzende Mitoseanstieg auf, der interpoliert einen 4h-Wert von 140 ‰ ergibt, so daß die normale Latenz erheblich unterschritten ist; ähnlich bei Ko., wo sich ein 4h-Wert immerhin von 65 ‰ ergibt.

Anstiegsdauer und Beginn des Abfalls sind sehr verschieden: Während bei Be. das Maximum erst bei 48h erreicht wird, ist bei Ko. bereits nach 24h ein Abfall zu verzeichnen.

Typenmäßig lassen sich die Kurven einiger Krankheiten zusammenfassen:

Die Perniciösen Anämien (Mü., Ma., Ba.) und die Chron. Myelose (Kr.) zeigen einen gipfligen Verlauf der Teilungsaktivität mit stark betontem Maximum, während der M.Hodgkin (Ko.) und die Sideroachrestische Anämie (Be.) einen verzögerten Anstieg zeigen mit einer auffällig gleichmäßigen Vermehrung der Mitosen in der weißen Reihe.

Erythropoese und Granulopoese laufen in den Fällen mit nennenswerter Mitoseanreicherung in zwei Fällen parallel:
Bei Ma. und Be. werden die Maxima zum gleichen Zeitpunkt erreicht. Bei den beiden anderen Fällen (Ko. und Kr.) wird das Maximum in der Granulopoese erst später erreicht zu einem Zeitpunkt, da die Teilungsaktivität in der Erythropoese bereits nachgelassen hat: Bei Ko. nach 24h (Erythropoese 12h), bei Kr. nach 32h (Erythropoese 20h).

Zusammenfassend läßt sich trotz mancher Ähnlichkeit ein für jede Kurve recht spezifisches Verhalten feststellen in bezug auf Verlauf und Stärke der Mitosehemmung, wobei trotz der angedeuteten Typisierung wegen der geringen Anzahl der untersuchten Krankheitsbilder und Patienten offen bleiben muß, ob es sich um individuell bedingte oder krankheitsspezifische Unterschiede handelt.

3. DIE REIFUNG DER ZELLEN IM VERLAUF DER KULTUR

Abb. 8 - 16 zeigen die in oben beschriebener Weise angefertigten Reifungskurven der einzelnen Patienten, Kontroll- und Colchicinwerte jeweils zusammen in einem Diagramm aufgetragen. Für die folgenden Betrachtungen wurde für jeden Patienten die Kurve mit der optimalen Colchicinwirkung benutzt.
Im einzelnen zeigt sich folgendes Reifungsverhalten in den Kontrollkulturen und unter Colchicin:

Mü. (Megaloblastenmark):

Die Megalopoese zeigt eine auffällige Linksverschiebung bei 20h durch starke Zunahme der Promegaloblasten in den Kontrollen und unter Colchicin, worauf dann eine Ausreifung folgt,

Mü., Perniciöse Anämie

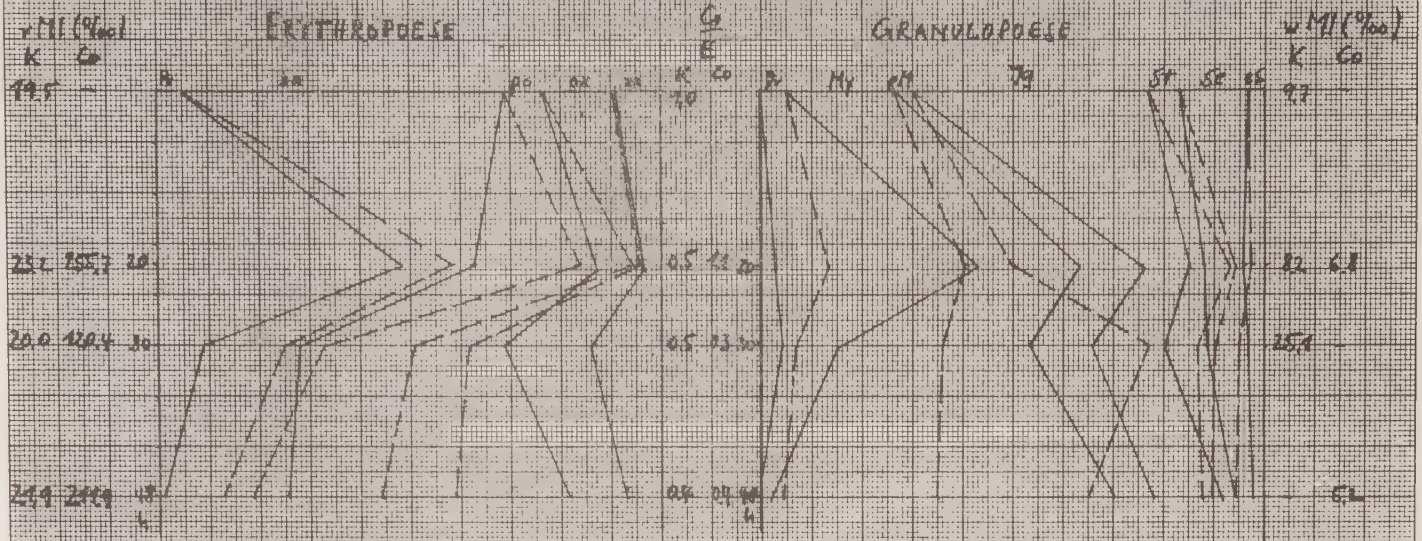


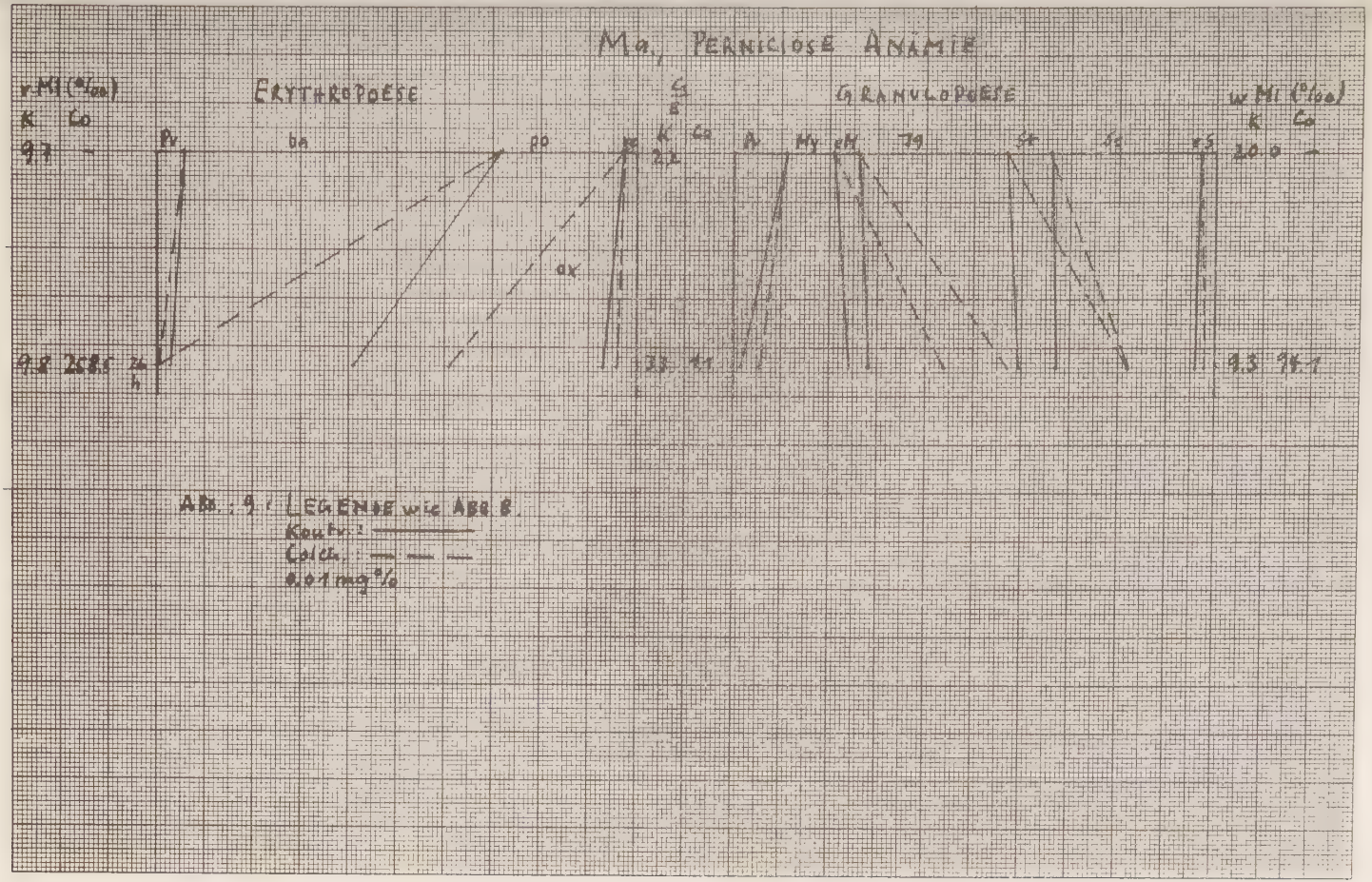
Abb. 8: Graphische Darstellung der Prozentzahlen der Reifungsstufen der Erythro- und Granulopoese in Vitro (= Reifungskurven)

Kontr. ——

Colch. 0,01 mg% ——

Pr = Proerythroblast bzw. Pronegaloblast
bo = Basophiler Erythroblast bzw. Megaloblast
po = Polychromatischer " " "
ox = Oxyphiler " " "
rc = Reifer " " "

Mb = Myeloblast
Pr = Promyelocyt
My = Myelocyt
eM = Eosinophiler Myelocyt
Jg = Jugendliche
St = Stäbe
Se = Segmente
eS = Eosinophile Segmente


Ma, PERNICIÖSE ANÄMIE
ERYTHROPOESE
GRANULOPOESE
r Mi (‰)
K Co
9.7 –
9.8 258.5
26 h
Pr
ba
po
ox
K Co
2.2
23 11
Pr
My
eM
Tg
St
Sg
eS
w Mi (‰)
K Co
20.0 –
9.3 94.1
ABB.: 9: LEGENDE wie ABB. 8.
Kontr.: ———
Calch.: — — —
0.01 mg %

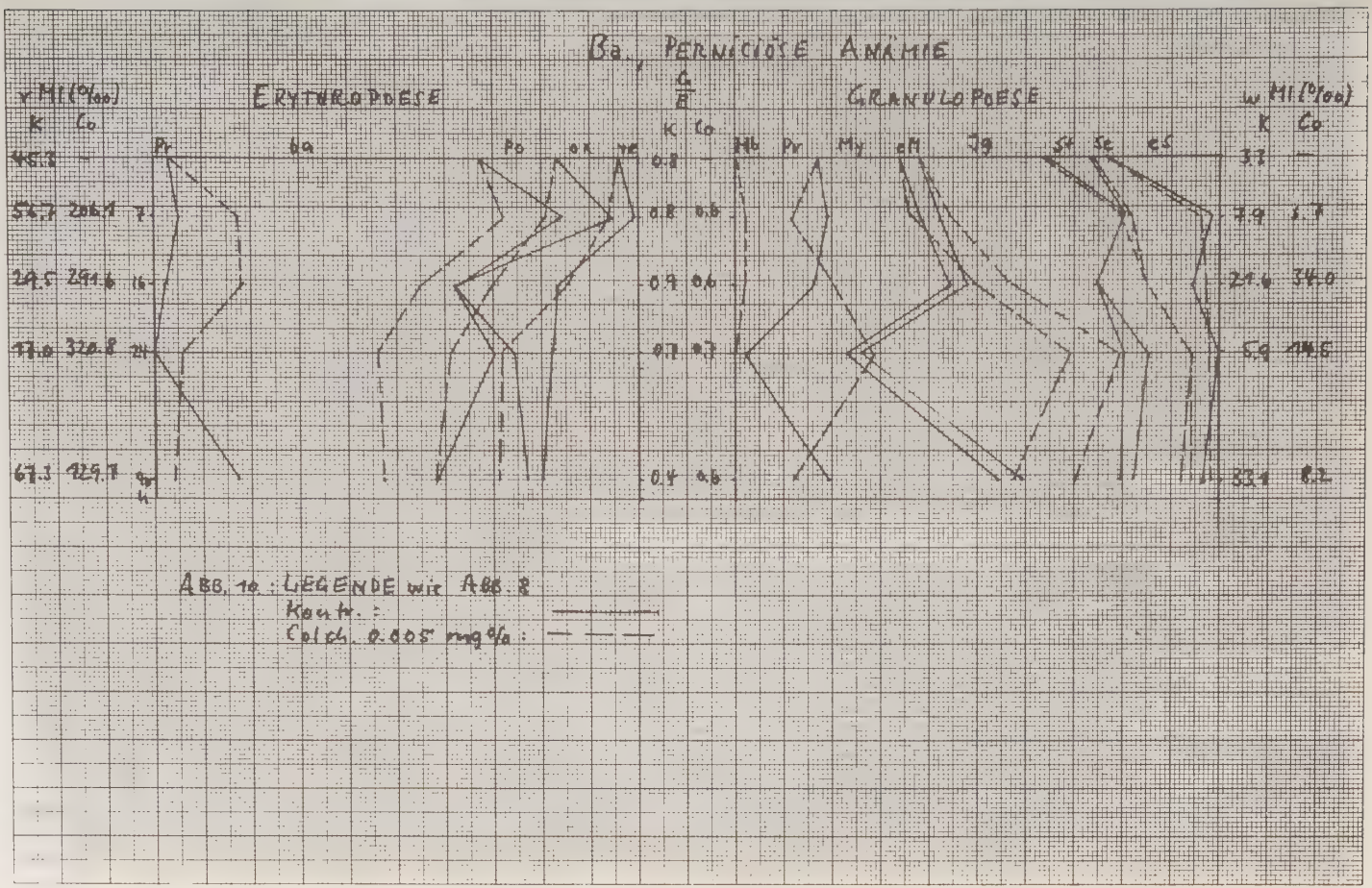
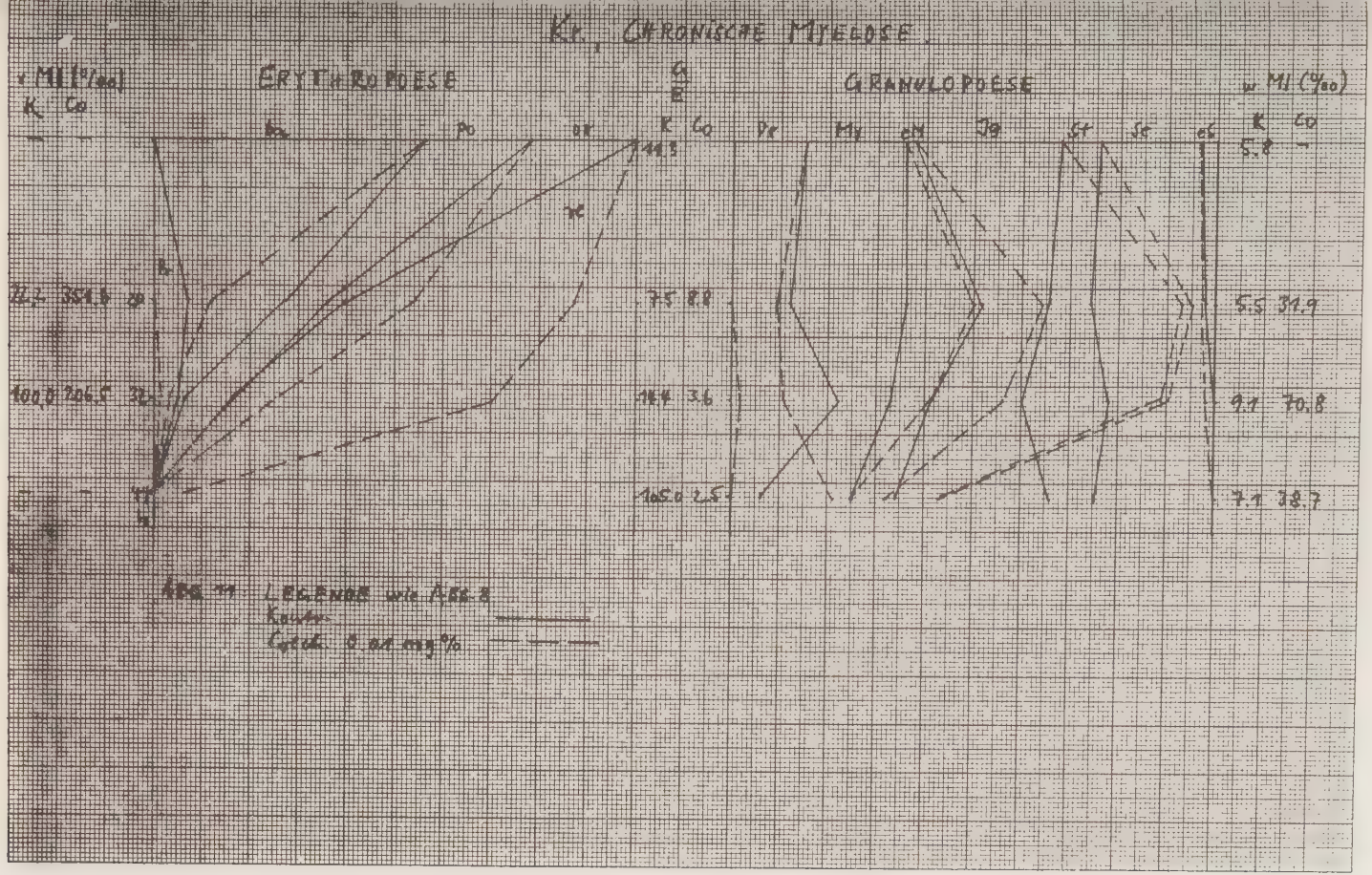


ABB. 10: LEGENDE wie ABB. 8
Kontr.: ———
Colch. 0.005 mg%: — — —


Kr., CHRONISCHE MYELOSE.
ERYTHROPOESE
GRANULOPOESE
K Co
Ba
Po
Or
Pr
My
eM
Jg
St
Se
eS
11.3
7.5 8.8
14.4 3.6
105.0 2.5
5.8
5.5 31.9
9.1 70.8
7.1 38.7
22.2 351.6
100.0 206.5
LEGENDE wie ABB. 8
Kontr.
Cytch. 0.01 mg%

Ko, M. Hodgkin

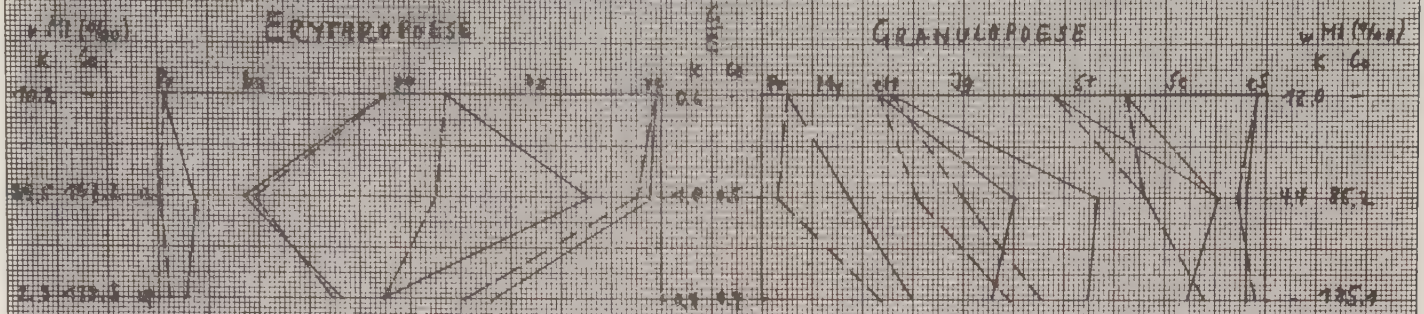
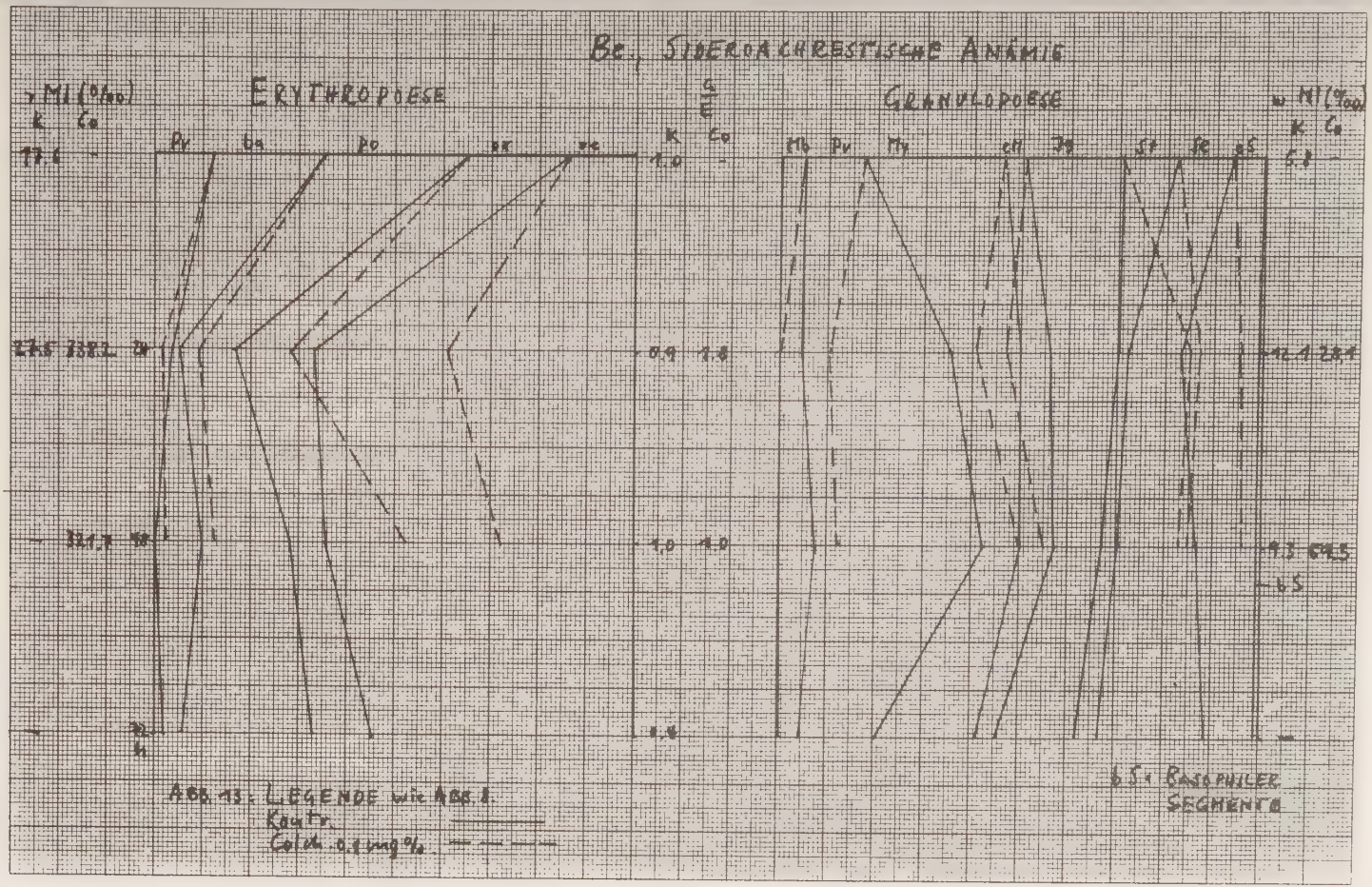
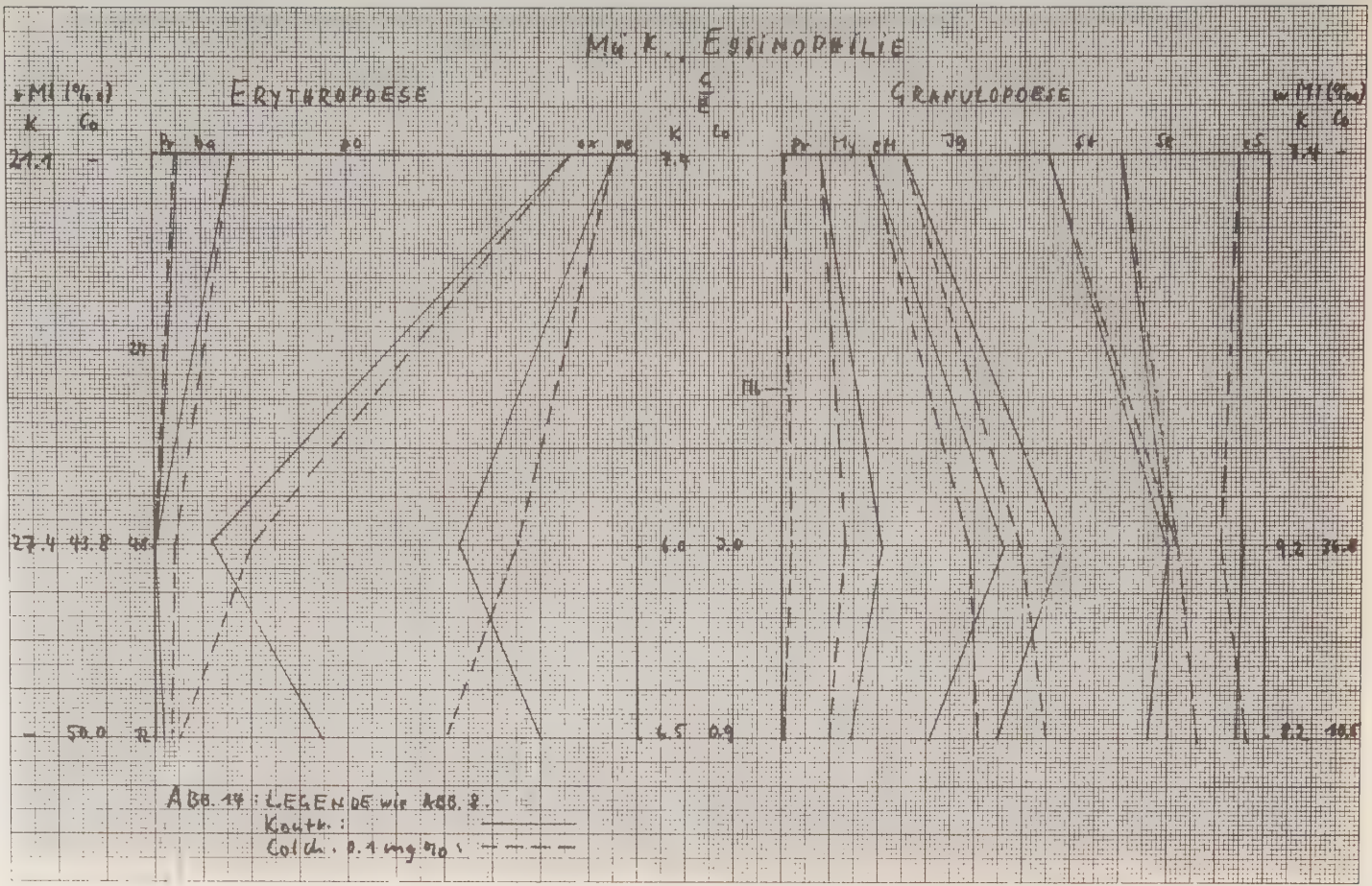
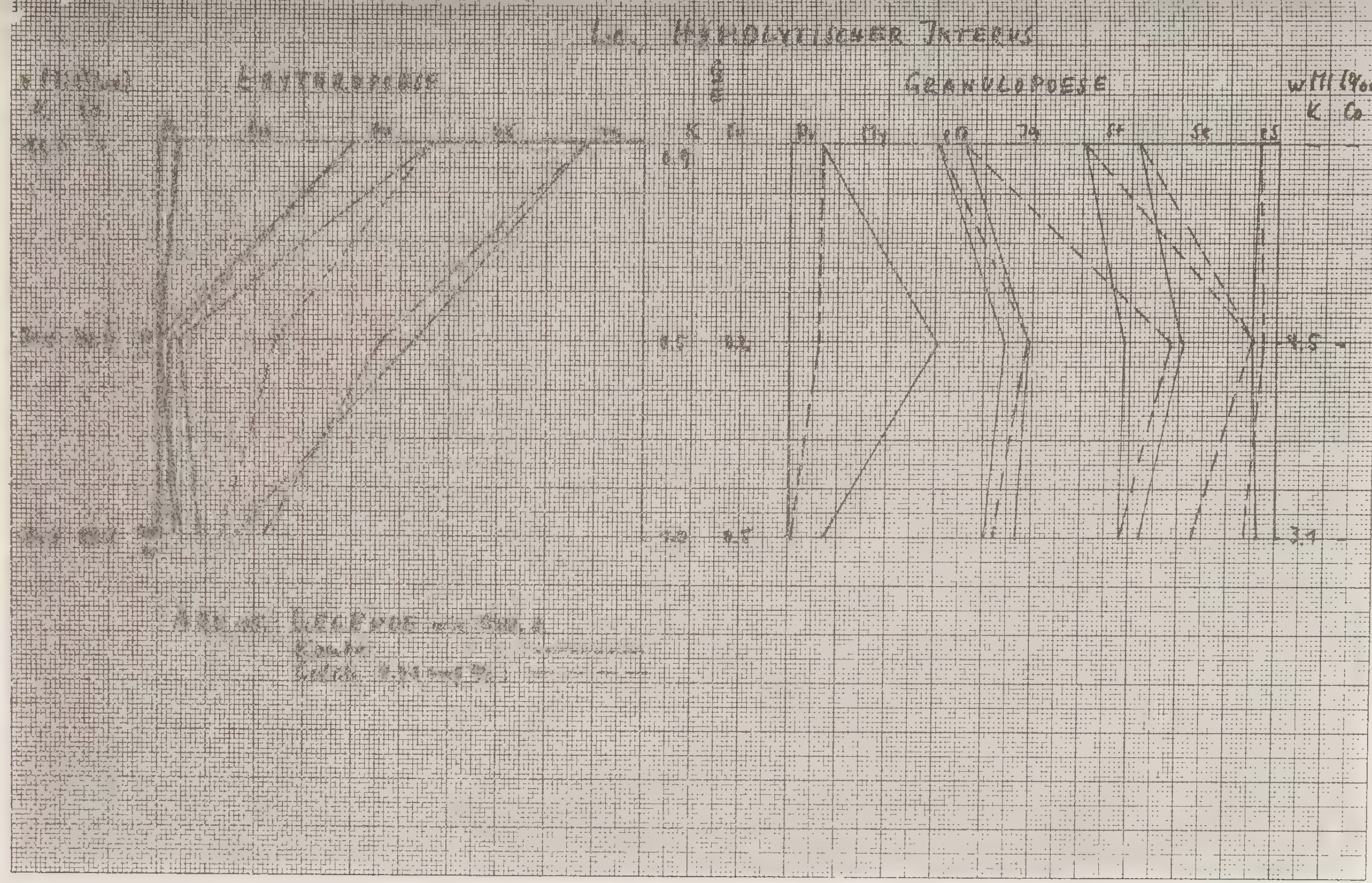


Abb. 12. Legende wie Abb. 8.
Konto
Gelch. 0.01 mg %


Be., SIDEROACHRESTISCHE ANÄMIE
ERYTHROPOESE
GRANULOPOESE
γ Ml (‰)
K Co
G/E
K Co
w Ml (‰)
K Co
Pr
ba
Po
ok
ne
Mb
Pv
My
cM
Jg
St
Se
eS
17.6
27.5 338.2
321.7
1.0
0.9
1.0
1.0
5.8
12.1 28.1
9.3 69.5
bS
ABB. 13: LEGENDE wie ABB. 8.
Kontr.
Colch. 0.1 mg %
bS: BASOPHILER SEGMENTE


Mü K., Essinophilie
Erythropoese
Granulopoese
K
Co
21.1
27.4
43.8
50.0
7.4
6.0
3.0
6.5
0.9
9.2
36.8
8.2
10.5
Pr
Ba
Zo
Ox
Ne
My
eM
Jg
St
Se
eS
Ab. 14: Legende wie Abb. 8.
Kontr.:
Colch. 0.1 mg %:


GRANULOPOESE
K Co
4.5
3.1

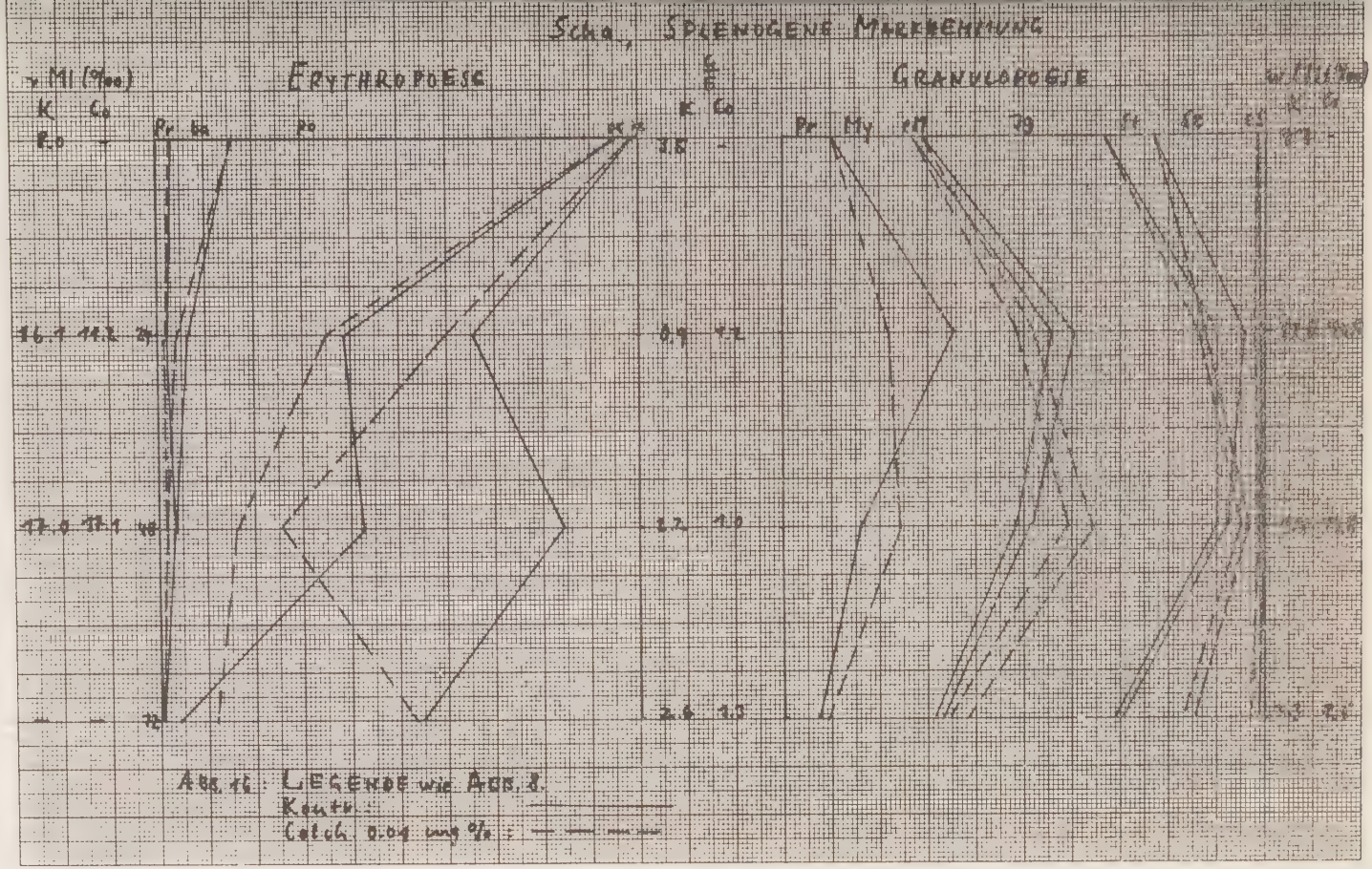


Abb. 16: Legende wie Abb. 8.
Kontr.:
Calch. 0.04 mg %: — — — —

die unter Colchicin deutlich stärker ist als bei den Kontrollen.
Die Granulopoese zeigt einen unauffälligen Kurvenverlauf bei den Kontrollen und Colchicin, wobei zwar teilweise Abweichungen voneinander auftreten, bezüglich der geringen Reifungstendenz aber kein Unterschied besteht.

Also: Megalopoese: Reifungsbeschleunigung unter Colchicin
Granulopoese: Keine wesentliche Beeinflussung der Reifung durch Colchicin.

Ma. (Megaloblastenmark):

In der Megalopoese findet sich bei 26h in den Kontrollen eine starke Verminderung der Unreifen (Promegaloblasten, basophile Megaloblasten). Sie ist noch erheblich stärker unter Colchicin, wo die Reife zugunsten der oxyphilen Megaloblasten fortschreitet. Bei gleichem Anteil der reifen Megaloblasten in der Kontrolle und unter Colchicin ergibt sich also eine Reifungsbeschleunigung unter Colchicin im Bereich der Unreifen zugunsten der Halbreifen.

In der Granulopoese verhalten sich die Kontrollen unauffällig. Unter Colchicin besteht umgekehrt wie in der roten Reihe eine deutliche Reifungshemmung.

Also: Megalopoese: Reifungsbeschleunigung unter Colchicin.
Granulopoese: Reifungshemmung unter Colchicin.

Ba. (Megaloblastenmark):

In der Megalopoese tritt bei den Kontrollen bereits nach 7h eine Linksverschiebung auf, der eine leichte Ausreifung folgt. Unter Colchicin findet sich eine gleichmäßigere Ausreifung, die von 24h an die der Kontrollen übertrifft.

In der Granulopoese zeigen sich wieder unauffällige Kurven. Nur nach 24h weichen die Kontroll- und Colchicinwerte stärker voneinander ab, sind in ihrer geringen Reifungstendenz jedoch ähnlich.

Also: Megalopoese: Mäßige Reifungsbeschleunigung unter Colchicin.

Granulopoese: Keine wesentlichen Unterschiede unter Colchicin.

Kr. (Chron.Myelose):

In der Erythropoese fällt bei den Kontrollen die starke Bewegung der Linien zur linken unteren Ecke der Graphik auf, entsprechend der Zunahme der reifen Elemente: Rechtsverschiebung, starke Ausreifung. Dagegen hebt sich auffällig die starke Reifungshemmung unter Colchicin bei 20h und 32h ab, die sichtbar wird in dem großen Anteil, den die Halbreifen (polychromatische und oxyphile Erythroblasten) in diesem Kurvenabschnitt einnehmen anstelle der reifen Erythroblasten bei den Kontrollen.

In der Granulopoese findet sich ebenfalls eine Zunahme der Halbreifen (Myelocyten, Metamyelocyten) auf Kosten der Reifen (Stäbe, Segmentkernige) und damit eine Reifungshemmung bei 20h und 32h, während in den Kontrollen die Linien ziemlich gradlinig verlaufen mit geringer Reifungstendenz.

Also: Erythropoese: Starke Reifungshemmung unter Colchicin.
Granulopoese: Starke Reifungshemmung unter Colchicin.

Ko. (M.Hodgkin):

In der Erythropoese fallen die starken Schwankungen der polychromatischen, basophilen und oxyphilen Erythroblasten auf, vor allem die starke Zunahme der polychromatischen Erythroblasten in der Kontrolle bei 12h, die sich unter Colchicin nicht findet. Im ganzen ist der Unterschied zwischen Kontrollen und Colchicin gering.

In der Granulopoese findet sich in den Kontrollen ein typisches Kulturverhalten mit der Linksverschiebung bei 12h und der bei 24h angedeuteten Reifungstendenz. Unter Colchicin findet sich ein nur verzögertes Anlaufen dieser Linksverschiebung, so daß die Verteilungen erst bei 24h wieder ähnlich sind.

Also: Erythropoese: Keine wesentliche Änderung der Reifung unter Colchicin.
Granulopoese: Verzögerte Reifung unter Colchicin.

Be. (Sideroachrestische Anämie):

In der Erythropoese findet sich eine gleichmäßig starke Ausreifung in den Kontrollen und eine starke Verzögerung der Ausreifung unter Colchicin.

In der Granulopoese findet sich bei den Kontrollen ein normales Reifungsgeschehen und unter Colchicin eine deutliche Abnahme der Teilungsfähigen insgesamt (Promyelocyt - Myelocyt) bei Zunahme der Jugendlichen.

Also: Erythropoese: Starke Reifungshemmung unter Colchicin.
Granulopoese: Keine wesentlichen Unterschiede unter Colchicin.

Mü.K. (Eosinophilie):

Hier zeigt sich in der Erythro- und Granulopoese ein unauffälliger Kurvenverlauf ohne wesentliche Unterschiede zwischen Colchicin und den Kontrollen.

Also: Bei fehlender Mitosehemmung in der
Erythropoese: Keine Beeinflussung der Reifung durch Colchicin.
Granulopoese: Keine Beeinflussung der Reifung durch Colchicin.

Le. (Hämolytischer Ikterus):

In der Erythropoese zeigt sich eine gute, gleichmäßige Ausreifung bei den Kontrollen und unter Colchicin.

Die Granulopoese zeigt ebenfalls einen typischen Kurvenverlauf für die Kontrollen und Colchicin, wobei durch die starke Zunahme der eosinophilen Myelocyten unter Colchicin bei 24h eine Reifungshemmung vorgetäuscht wird.

Also: Bei fehlender Mitosehemmung in der
Erythropoese: Keine Beeinflussung der Reifung durch Colchicin.
Granulopoese: Keine Beeinflussung der Reifung durch Colchicin.

Scha. (Splenogene Markhemmung):

Die Verläufe in beiden Reihen ähneln denen von Mü.K, Die Unterschiede zwischen den Kontrollen und Colchicin in der Erythropoese haben keine einheitliche Tendenz und sind deshalb nicht zu verwenden.

Also: Bei fehlender Mitosehemmung in der
Erythropoese: Keine Beeinflussung der Reifung durch Colchicin.
Granulopoese: Keine Beeinflussung der Reifung durch Colchicin.

Faßt man die Ergebnisse dieser Reifungskurvenanalysen zusammen, so findet man bei einigen Fällen eine Änderung des Reifungsgeschehens im Sinne einer Reifungshemmung oder -beschleunigung und bei den anderen keine Beeinflussung. Die Änderung des Reifungsgeschehens zeigt sich in der Erythropoese als Reifungshemmung (Kr., Be.) und in der Megalopoese als Reifungsbeschleunigung (Mü., Ma., Ba.) bei guter Mitosehemmung (-352 ‰). Die Ergebnisse in der Granulopoese sind bei geringer Mitosehemmung (-94 ‰) nicht eindeutig; hier wäre Xanthopterin[4] als Mitosehemmer geeigneter. Nur in einem Fall war die Granulopoese nach 24h im MI stark erhöht (185 ‰), hier fand sich die entsprechende Reifungshemmung. Die restlichen Kurven zeigen praktisch keine Beeinflussung durch Colchicin.

Colchicin scheint demnach bei einigen Kulturen einen Einfluß auf die Reifung zu haben. Vergleicht man nun noch einmal die Kurven mit Beeinflussung der Reifung:

	rote R.:	weiße R.:
Mü., rote Reihe, MI (max.):	255,7	
Ma., rote und weiße Reihe	258,5	94,1
Ba., rote Reihe	320,8	
Kr., rote und weiße Reihe	351,6	70,8
Ko., weiße Reihe		185,1
Be., rote Reihe	338,2	

mit den Kurven ohne Beeinflussung der Reifung:

		rote R.:	weiße R.:
Mü.,	weiße Reihe, MI (max.):		6,8
Ba.,	weiße Reihe		34,0
Ko.,	rote Reihe	167,2	
Be.,	weiße Reihe		59,3
Mü.K.,	rote und weiße Reihe	50,0	36,8
Le.,	rote und weiße Reihe	44,9	-
Scha.,	rote und weiße Reihe	17,1	4[illegible],0

so zeigt sich, daß die reifungsbeeinflußten Kurven diejenigen mit hohem Colchicin-Mitoseindex und die nicht beeinflußten diejenigen mit niedrigem Colchicin-Mitoseindex sind (mit Ausnahme von Ko , rote Reihe)! Die Beeinflussung der Reifung findet sich vor allem bei der roten Reihe, die bekanntermaßen auch wesentlich empfindlicher gegenüber Colchicin ist und höhere Mitoseindices aufweist als die weiße Reihe. Der Einfluß geschieht in zunächst widersprüchlich scheinender Weise als Hemmung der normalen Erythropoese (Kr. und Be.) und als Förderung der Megalopoese (Mü., Ma., Ba.).

Welche Wirkung hat Colchicin auf die Zelle selbst? Es blockiert die Mitosen und verhindert damit Zellteilungen, d.h. Regeneration. Nach unseren Ergebnissen beeinflußt es auch die Reifung der Zellen: Daraus ergibt sich ein Zusammenhang zwischen Zellteilung und -reifung, der auf eine gemeinsame Ursache verweist, da Colchicin nur eine einzige Wirkung, die Mitosehemmung, ausübt.

Betrachten wir nun noch einmal als Beispiel den Kurvenverlauf der Erythropoese von Kr.: Starke Teilungsaktivität und Blokkierung dieser Teilungen durch Colchicin bei 20 und 32h (Colchicin-Mitoseindex 351,6 und 205,5 ‰): starke Ausreifung bei den nicht gehemmten Kulturen - starke Reifungshemmung bei den colchicingehemmten Kulturen; bei 44h Angleichung der Kontroll- und Colchicinkulturen bei einem Colchicin-Mitoseindex von 0. Colchicin-Mitoseindex, Teilungshemmung und Reifungshemmung gehen also parallel. Oder: Wenn die Zellteilung gehemmt ist, ist auch die Zellreifung gehemmt.

Der Zusammenhang zwischen Zellteilung und - reifung liegt auf der Hand: Die Zellteilungen sind in diesem Falle bei der Erythropoese R e i f e t e i l u n g e n , was bedeutet, daß die aus 1 Zelle entstehenden 2 Tochterzellen nicht der Mutterzelle gleichen, sondern weiterentwickelte Zellen der nächsten Reifungsstufe sind. Kann durch Colchicin die Mitose nicht beendet werden, kommt es auch zu keiner Zellvermehrung in der nachfolgenden Reifeklasse.

Die hier sichtbar gemachte Doppelwirkung von Colchicin auf Zellteilung und -reifung und ihre Erklärung durch die Abhängigkeit beider wird verständlich durch die Theorie der isohomo- und isoheteroplastischen Teilung von WEICKER[7]. Entsprechend diesem Konzept der Erythropoese sehen wir bei den oben erwähnten Beispielen Kr. (chron.Myelose) und Be. (sideroachrestische Anämie) in den Kontrollen ein Überwiegen der heteroplastischen gegenüber den homoplastischen Teilungen mit entsprechend starker Reifung und unter Colchicin eine durch die Mitoseblockade bedingte Hemmung dieser Reifeteilungen und damit der übermäßigen Reifung, was zum Bild der Reifungshemmung in den Colchicin-Reifungskurven führt.

Die Ergebnisse der Erythropoese von Ko. sind die einzigen mit Colchicinwirkung ohne bedeutende Reifungsbeeinflussung und lassen sich nicht im Sinne der dargelegten Theorie deuten. In diesem Fall sind die Colchicinindices in der Erythropoese allerdings im Verhältnis zu den anderen Kulturen mit Hemmungs- und Reifungseffekt ziemlich niedrig, vielleicht zu niedrig, um einen Effekt in dieser Richtung zu zeigen. Außerdem ist der Kurvenverlauf atypisch und insofern schlechter zu beurteilen, insbesondere, da Vergleichskurven anderer Untersucher von M.Hodgkin nicht vorlagen.

Bei den übrigen 3 Fällen mit hohen roten Colchicin-Mitoseindices fand sich eine Beschleunigung der Reifung. Es handelt sich um die 3 Patienten mit Megaloblastenmark (Mü., Ma., Ba.). Widerspricht das der oben genannten Theorie? Das Wesen dieser Krankheit liegt bekanntlich in einer durch Vitamin B12

Mangel bedingten Kernreifungsstörung, die alle Körperzellen, besonders aber die sehr stark proliferierende Erythropoese, weniger die Granulopoese und Thrombopoese betrifft. Bei starker isohomoplastischer Teilungsaktivität ist das Knochenmark mit unreifen Vorstufen der Erythropoese bzw. Megalopoese überschwemmt, während die heteroplastischen, d.h. Reifeteilungen, stark zurückgedrängt sind (BOLL[3] S. 119 ff). Die mangelhafte Reifung der Megaloblasten in vitro ist also bedingt durch das Fehlen von Reifeteilungen bei starkem kompensatorischem Überwiegen der isohomoplastischen Teilungen. Es liegt eine starke isohomoplastische und eine geringe isoheteroplastische Teilungsaktivität vor.

Die von vielen Untersuchern gefundene gute Ausreifungstendenz von Megaloblastenmark in Kultur scheint dem zu widersprechen, erklärt sich aber durch die im Nährboden enthaltenen Vitamin B12 Mengen. Colchicin beschleunigt, wie oben gezeigt, die Megaloblastenreifung. Dabei ist anzunehmen, daß der Wirkungsmechanismus des Colchicin bei der Megalopoese derselbe ist wie bei den besprochenen Fällen mit Reifungshemmung der Erythropoese, nämlich eine Hemmung der Mitosen. Dort (Kr., Be.) wurden bei einem Überwiegen der r e i f e n d e n Erythropoese die heteroplastischen Teilungen und damit die Reifung gehemmt. Hier, bei den Perniciösen Anämien, ist die Situation umgekehrt: Bei einem starken Überwiegen der homoplastischen Megalopoese werden diese pathologischen, nicht zur Reifung führenden Teilungen blockiert und damit die durch den Vitamin B12 Gehalt des Nährbodens schon in Gang gebrachte Ausreifung und Normalisierung des Megaloblastenmarks beschleunigt. Die Colchicinwirkung ist also in beiden Fällen dieselbe, sie führt jedoch je nach Art der von ihr hauptsächlich betroffenen Regeneration naturgemäß zu einem unterschiedlichen Ergebnis im Hinblick auf die Reifung.

Bei der Granulopoese finden sich nur in 3 Fällen verwertbare Veränderungen (Ma., Kr., Ko.). Die Knochenmarkkulturen von Ko. (M.Hodgkin) zeigen bei maximaler Mitosehemmung mit Rechtsverschiebung eine Hemmung der Reifung in der weißen Reihe, wie

sie in Analogie zur Erythropoese zu erwarten ist. Bei der chron.Myelose (Kr.), die in den Kontrollen den hierbei üblichen abgeflachten Kurvenverlauf aufweist, kommt es unter Colchicinhemmung zur Linksverschiebung nach 20 und 32h und zur Ausreifung nach 44h, damit zum Kurvenverlauf der Normalfälle von BOLL[3] S.92. Ihre Deutung der Reifungshemmung bei chron. Myelosen (BOLL[5]) erfährt durch diesen Colchicinversuch eine Bestätigung.

Die bis 26h auswertbare Reifungskurve der Megalo-Granulopoese (Ma.) zeigt dasselbe Verhalten wie bei der chron. Myelose: In den Kontrollen abgeflachter Kurvenverlauf wie bei BOLL[3] und unter Colchicin Linksverschiebung.

Die fehlenden Reifungsveränderungen in den Kulturen Mü.K., Le. und Scha. unter Colchicin sind durch die mangelhafte Colchicinwirkung bedingt.

Die bei unseren Versuchen nachgewiesene Doppelwirkung von Colchicin auf Teilung und Reifung findet also ihre Erklärung im Nachweis der Abhängigkeit beider voneinander. In der Erythropoese erklärt sich die unterschiedliche Colchicinwirkung auf die Reifung im Sinne der Förderung oder Hemmung durch die Theorie der isohomoplastischen und isoheteroplastischen Regeneration. Dabei wird je nach dem - bedarfsgesteuerten oder pathologisch veränderten (Perniciöse Anämien) - Vorherrschen der einen oder anderen Art der Regeneration und ihrer Hemmung im Colchicinversuch entweder die Reifung als Folge des Überwiegens der isoheteroplastischen Regeneration gehemmt (im Normalfall) oder beim Überwiegen der isohomoplastischen Regeneration und deren Zurückdrängung durch die Colchicinhemmung gefördert (bei perniciöser Anämie).

Andererseits stützen die Ergebnisse dieser Versuche die Theorie der normalen und megaloblastischen Erythropoese von BOLL.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Mit der bekannten Technik der Colchicin-Hemmung der Regeneration von Knochenmarkzellen in Kultur (ASTALDI) wurde bei verschiedenen Patienten mit normaler und megaloblastischer Erythropoese, mit normaler Granulopoese und bei chronischer myeloischer Leukämie die Reifung untersucht. Die Mitosehemmung war bei 3 Patienten mit normaler und bei 3 Patienten mit megaloblastischer Erythropoese maximal mit Werten bis 35o ‰. Die Granulopoese war durch Colchicin weniger in den Mitosen arretiert (bis 185 ‰). Entsprechend den heteroplastischen Reifeteilungen war die Reifung in der normalen Erythropoese durch die Mitosearretierung gehemmt. Bei der Megalopoese waren die isohomoplastischen regenerativen Teilungen gehemmt, und es kam unter Colchicin zu einer verstärkten Ausreifung gegen die Kontrollkulturen, wodurch sich diese Teilungsarten im Colchicinversuch bestätigen. Die normale Granulopoese zeigte entsprechend ihrer nur mäßigen Mitosearretierung unter Colchicin nur in einem Fall einen eindeutigen Befund. Das untersuchte Knochenmark bei chron. myeloischer Leukämie war relativ gut, aber wie bei den anderen Patienten in der Granulopoese spät gehemmt und verwandelte die Reifungskurve von der typischen bei chron. Myelose, die als Reifungshemmung gedeutet ist, in eine Reifungskurve wie in der normalen Granulopoese.

L I T E R A T U R

1 ASTALDI, G et MAURI,C.: La valutazione dell'attività proliferativa delle cellule midollari. Studio di un "Test Statmocinetico". Haematologica 33, 13 (1949).

2 - u. COSTA, G.: Determinaciòn della dosis óptima de colchicina para la realizaciòn del test estatmocinético en los linfocitos estiminales. Sangre 9, 489-494 (1964).

3 BOLL, I: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Berlin, Heidelberg, NY. Springer Verlag 1966.

4 - Beeinflussung der Erythro- und Leukopoese durch die Mitosegifte Colchicin und Xanthopterin in vitro. Acta Haematol. 9, 185 (1953).

5 - The Maturation of Normal Granulocytopoiesis in vitro Compared with that of Chronic Myelocytic Leukemia. Sangre 9, 41 (1964).

6 ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark. Stuttgart: Thieme Verlag, 3. Aufl. 1960.

7 WEICKER, H.: Handbuch ges. Hämatologie Bd. I., 1957.

Hans-Peter Königs
1 Berlin 30
Regensburgerstr. 3

Berlin, 26.8.68

Lebenslauf.

Am 7.8.1939 wurde ich in Düsseldorf geboren.
1946 besuchte ich die Volksschule, 1950 das Görres-Gymnasium, auf dessen humanistischem Zweig ich 1959 das Abitur machte. Nach 18-monatiger Bundeswehrzeit begann ich 1960 in Köln mit dem Medizinstudium und machte dort 1 961 das Vorphysikum. Ich studierte dann in Berlin an der FU weiter Medizin und Psychologie, machte 1963 das Physikum und 1967 das Staatsexamen. Dann arbeitete ich als M.A. 8 Monate auf der Inneren Abt. des Kreuzberg-Krh., 5 Monate auf der Chirurgie und 4 Monate in der Gynäkologie des Urban-Krh.

Hans-Peter Königs